

Über die chemische Beschaffenheit der sog. Hornfäden von *Mustelus* und über die Zusammensetzung der keratinösen Hüllen um den Eiern von *Scyllium stellare*.

Von

C. Fr. W. Krukenberg

in Jena.

Mit Hinweis auf die widersprechenden Angaben, welche über das chemische Verhalten der sog. Hornfäden in den Flossen der Fische, speciell der Selachier, in den histiologischen Arbeiten über diese Gebilde niedergelegt und von V. LA VALETTE ST. GEORGE¹ vor Kurzem zusammengestellt sind, veranlasste mich Herr Dr. PAUL MAYER, dieselben einer eingehenderen Untersuchung zu unterwerfen und sandte mir zu diesem Zwecke mehrfach Hornfäden aus den Flossen von *Mustelus*, theils trocken, theils in Alkohol conservirt. Zur Gewinnung der Trockenpräparate waren die Flossen in siedendem Wasser abgebrüht, die Flossenhaut abgeschabt und die Fäden nach Abspülen mit Wasser und wenig Alkohol bei circa 50° C. getrocknet. In analoger Weise waren die in Alkohol versandten Fäden behandelt. Nach ihrer weiteren Reinigung boten beiderlei Präparate, welche sich gegen concentrirte Mineralsäuren noch etwas resistenter als frische, lediglich mittels kalten Wassers aus den Flossen isolirte Fäden erwiesen, keine Abweichungen in ihren chemischen Eigenschaften dar. Präparate dieser Art dienen sowohl zur Reindarstellung der Substanz, als auch zum Studium ihrer Zersetzungsproducte bei Einwirkung überhitzten Wasserdampfes und

¹ V. LA VALETTE ST. GEORGE, Über den Bau der Fettflosse. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 17. 1880. p. 187—193. Vgl. auch M. V. DAVIDOFF, Beitr. z. vergl. Anat. der hinteren Gliedmaße der Fische. Morphol. Jahrb. Bd. 5. 1879. p. 456—459.

beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure. Zu den Verdauungsversuchen wie zur Prüfung auf die Widerstandsfähigkeit gegen Säuren und Alkalien fanden dagegen ausschließlich solche Fäden Verwendung, welche ich, bei Vermeidung jeder höheren Temperatur, nach dem Aufweichen mit kaltem Wasser aus Flossen herauslöste, die von Herrn Dr. MAYER in Neapel frisch zwischen Papier gelegt, mir nach einigen Tagen eingetrocknet zugegangen und sogleich in Arbeit genommen waren.

Am nächsten lag gewiss die Vermuthung, die Fäden möchten collagener Natur sein. Ich kochte deshalb den größten Vorrath der bei Siedetemperatur glashell bleibenden Fäden zwölf Stunden mit destillirtem Wasser aus, nachdem sie zuvor von den anhaftenden Eiweißgerinnseln aufs sorgfältigste befreit waren, und prüfte nach je 2—3 Stunden unterhaltenem Kochen die Flüssigkeit auf ein etwaiges Gelatinirungsvermögen, indem dieselbe vor erneuertem Wasserzusatz auf wenige Tropfen concentrirt und mindestens einen halben Tag lang ruhig stehen gelassen wurde. Das Wasser hatte dabei indess nur Spuren von organischer Materie aufgenommen, und niemals war an dem Verdampfungsrückstande eine Gelatine- oder Leimbildung wahrzunehmen. Wie nach mehrtägiger Einwirkung auch von kaltem Wasser, waren die Fäden stark gequollen, hatten sich stellenweise aufgefasert, waren leicht zerreibbar geworden und fühlten sich schleimig an; aber alles Erscheinungen, welche beim Trocknen über Schwefelsäure (wenn auch erst nach mehreren Tagen) vollständig schwanden und auch beim Kochen mit Essigsäure rasch wieder zurückgingen. Somit war erwiesen, dass ein collagener Stoff den Hornfäden nicht zu Grunde liegt.

Den proteolytischen Enzymen gegenüber verhalten sich die Hornfäden sehr ähnlich den collagenen Substanzen. In Pepsinsalzsäure von 0,1% an der Säure, welche rohes Fibrin in 2—3 Minuten verdaut, erfolgt, ohne dass ein weiterer Zerfall oder ein Undurehsichtigwerden der Fäden beobachtet wird, eine Verdauung derselben bei 38° C. binnen 6—7 Stunden; nur ganz unbedeutende Flöckchen bleiben zurück und die Verdauung vollzieht sich an frischen, zuvor nicht mit erwärmtem Wasser behandelten und gekochten Fäden gleich gut. Von tryptischen Verdauungsgemischen werden bei schwach saurer, neutraler oder alkalischer Reaction die Fäden nur dann verdaut, wenn sie zuvor mit Wasser gekocht wurden; die Verflüssigung erfolgt in diesem Falle sehr ähnlich wie bei der Pepsinverdauung, ohne dass sich die Fäden trüben, eine axiale Lockerung, einen Zerfall in Querstücke oder in Längs fibrillen erleiden. Hornfäden, welche zuvor weder mit Alkohol noch mit siedenden

dem Wasser behandelt sind, bleiben in rein gehaltenen Trypsinflüssigkeiten Tage lang unverändert, während Fäulnis zu einer Lockerung der wellig verlaufenden Faserzüge führt, von welchen an den frischen, glasartig homogenen Fäden kaum Andeutungen zu sehen sind. Durch das Verhalten zu Trypsin unterscheidet sich die Substanz der Hornfäden eben so wie das Collagen vom Elastin, zu Pepsin verhalten sich dagegen alle drei Substanzen gleich; denn auch die Elastine unterliegen nach wenigen Stunden der Einwirkung kräftiger Pepsinflüssigkeiten, und es bedarf dazu nicht, wie HORBACZEWSKI¹ will, im günstigsten Falle einer Versuchsdauer von 24—72 Stunden, oder gar, wie ETZINGER² angab, einer solchen von zehn Tagen. Befolgt man bei den Bereitungen der Enzymflüssigkeiten die von mir³ gegebenen Vorschriften und nicht die leider noch so gebräuchlichen älterer Autoren, welche mehr oder weniger schwach wirkende Verdauungsflüssigkeiten liefern, so wird man, wie EWALD und KÜHNE⁴ bereits lange vor HORBACZEWSKI berichteten, sämtliche Elastine nach kurzer Zeit angegriffen und nach wenigen Stunden verdaut finden. Nur ein Elastin ist bekannt geworden, welches sich durch eine außerordentliche Widerstandsfähigkeit gegen Trypsin auszeichnet; es ist das Schalenelastin des Ringelnattereies, welches von HILGER analysirt wurde und dessen Eigenschaften von mir⁵ eingehender untersucht und beschrieben sind.

In concentrirten, kalt angewendeten Mineralsäuren (Salpetersäure, Schwefelsäure, Salzsäure) wie in Kalilauge (1:1) schrumpfen die Fasern, färben sich in der Salpetersäure bald darauf gelb, später rothbraun, während sie in concentrirter, roher Salzsäure bis zu ihrer Lösung ausnehmend durchsichtig bleiben, in concentrirter Schwefelsäure erst nach Stunden eine braungelbe Färbung und in concentrirter Kalilauge schon nach einigen Minuten eine opake Beschaffenheit annehmen. Von den Säuren wirkt Salpetersäure am energischsten auf die Fäden ein. Beschleunigt man den Lösungsvorgang durch wiederholtes Schütteln, so ist die Lösung in der rauchenden Salpetersäure nach etwa zwei Stunden complet geworden, in gewöhnlicher concen-

¹ J. HORBACZEWSKI, Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. 6. 1852. p. 334.

² J. ETZINGER, Zeitschr. f. Biologie. Bd. 10. 1874. p. 84.

³ KRUKENBERG, Grundriss der medic.-chem. Analyse. Heidelberg 1884. p. 35 ff.

⁴ A. EWALD und KÜHNE, Die Verdauung als histiologische Methode. Sep.-Abdr. a. d. Verhandl. des naturhist.-medic. Vereins zu Heidelberg. N. F. Bd. I. Heft 5. 1876.

⁵ KRUKENBERG, Vergl.-physiolog. Studien. II. Reihe. 2. Abth. 1882. p. 89—92.

trirter Salpetersäure bedarf es dazu einer längeren Zeit (ca. 4 Stunden), und noch etwas langsamer (in ca. 5 Stunden) verläuft der Lösungsvorgang in concentrirter, roher Salzsäure, aus welcher die einmal gelöste Substanz durch Wasserzusatz nicht wieder auszufällen ist. 5 und 10%ige Salpetersäure greift die Fäden innerhalb 6 Tagen nicht an und macht sie weder quellen oder schrumpfen noch trübe. Beim Schütteln mit concentrirter Kalilauge (1 : 1) zerbröckeln die spröde gewordenen Fasern schon nach einer Macerationsdauer von 2—3 Stunden; aber selbst nach 24 Stunden constatirt man keine vollständige Auflösung der weiter zerfallenen Masse; damit diese erfolgt bedarf es noch einer etwas längeren Maceration. Günstiger für eine rasche vollständige Auflösung erweist sich 10%ige Kalilauge, während eine 5%ige Lösung etwas langsamer einwirkt, die Fäden nach 24 Stunden zur Unkenntlichkeit quellen macht und bald darauf in Lösung überführt. Die Lösungen in Kalilauge erlitten weder beim Neutralisiren, noch beim Übersättigen mit Säuren (Salzsäure, Salpetersäure, Essigsäure, selbst nicht durch Gerbsäure nach vorausgegangenem schwachen Ansäuern mit Essigsäure) Fällungen, ausgenommen durch Salzsäure + Phosphormolybdänsäure; auch Ferrocyankalium gab in der essigsäuren Lösung keinen Niederschlag. Weit langsamer als in Salpetersäure, Salzsäure und Kalilauge schreitet die Zersetzung in concentrirter reiner Schwefelsäure vor; abgesehen von einer sich langsam entwickelnden Bräunung ist nach 24stündigem Verweilen der Fäden in der Säure kaum eine Einwirkung wahrzunehmen und auch nach drei Tagen sind die Fäden noch nicht tiefgreifender verändert, erst am fünften Tage wird eine gleichmäßige Verschleimung augenfälliger. Beim Kochen erfolgt die Lösung in allen Fällen selbstverständlich ungleich rapider; bei Anwendung von stärkeren Laugen oder von Salpetersäure ist dieselbe eine fast momentane. Verdünntere Mineralsäuren, concentrirte Essigsäure wie Ammoniak lassen die Fäden tagelang intact, Eisessig und Ammoniak selbst bei anhaltendem Kochen.

Nach zehu Stunden und länger fortgesetztem Erhitzen mit 30 cem dcstillirten Wassers auf 170—200° C. im zugeschmolzenen Glasrohre hatten 0,8 g der Hornfäden ihre Structur gänzlich eingebüßt, doch nur Spuren der Substanz waren als Albumosen und diffundibele Peptone in Lösung gegangen; alles Übrige war in einen verfilzten, kleberartigen Detritus verwandelt, der (bei starker Vergrößerung untersucht) sich aus an einander haftenden kleinsten Fäserchen bestehend erwies¹.

¹ HORBACZEWSKI (a. a. O., p. 344) giebt an, dass 2 g Elastinpulver, dar-

Dieser Umwandlung entsprechend gab die von dem ungelösten Rückstande abfiltrirte, wenig gelblich gefärbte, sehr schwach nach Schwefelwasserstoff riechende, neutrale Flüssigkeit folgende Reactionen. Keinen Niederschlag bewirkten wenig oder viel Alaun, neutrales oder basisches Bleiacetat, wohl aber Gerbsäure wie Salzsäure + Phosphormolybdänsäure. Durch Quecksilberchlorid entstand eine unbedeutende Trübung, eben so auf vorsichtigen Zusatz von Essigsäure wie von Salpetersäure, auf reichlicheren Säurezusatz verschwanden letztere Trübungen aber sofort wieder; eben so löste sich die in der mit Essigsäure angesäuerten Flüssigkeit auf Ferrocyankalium entstandene geringe Fällung bei reichlicherem Essigsäurezusatz sogleich wieder auf. Die Xanthoproteinreaction fiel positiv aus, eben so die Biuretprobe, doch eine Reduction des Kupfersalzes bei Natronzusatz und bei anhaltendem Kochen erfolgte nicht. In der nämlichen Weise mit überhitztem Wasser sechs Stunden lang bei 165—170° C. behandelte Hornfäden, 1,2 g an Gewicht, lieferten ein Filtrat, welches sich gegen die Reagentien dem vorigen völlig gleich verhielt und auf dem Wasserbade bis auf wenige Tropfen eingedickt, weder leimte noch gelatinirte.

Für die Elementaranalysen und zur Darstellung der Zersetzungsproducte, welche sich beim Kochen der Fäden mit verdünnter Schwefelsäure bilden, wurden die Fäden einer weitem Reinigung unterworfen, indem dieselben 16 Stunden mit destillirtem Wasser gekocht, dann einzeln ausgelesen, von den beim Kochen trübe gewordenen Anhängseln eiweißartiger oder collagener Beschaffenheit befreit und mit Essigsäure längere Zeit im Sieden erhalten wurden. Hierauf wurden die Fäden noch einen Tag mit 1—2% iger Salzsäure macerirt, sorgfältig mit Wasser ausgewaschen, abgepresst, mit Alkohol warm extrahirt und fein zerkleinert, mit Äther übergossen, mehrere Tage mit dem Äther stehen gelassen und während dieser Zeit wiederholt damit ausgeschüttelt. Eine Behandlung mit auch noch so verdünnter Lauge unterblieb, weil dieselbe die Substanz nicht ganz intact zu lassen scheint.

Das so gewonnene Präparat hatte die Form der Fasern unverändert beibehalten, war verhältnismäßig leicht zu pulverisiren, besaß (ähnlich getrocknetem Eieralbumin) einen Stich ins Gelbe, reagirte gleich den

gestellt aus dem Naekenbände vom Ochsen, mit 50 cem Wasser im zugeshmolzenen Glasrohre etwa 20 Stunden auf ca. 100° C. erhitzt, eine gelblich gefärbte Flüssigkeit gaben, in welcher nur eine geringe Menge von ungelöst gebliebener Substanz suspendirt war. So tiefgreifend wie jenes Elastin werden die Hornfäden bei dieser Proeedur jedenfalls nicht verändert.

Eiweißstoffen bei der Xanthoprotein- und MILLON'schen Probe, färbte (gleich dem Elastin aus dem Nackenbände des Ochsen) aber weder sich, noch die umgebende Flüssigkeit bei kurzem Kochen mit concentrirter roher Salzsäure roth, violett oder blau, sondern eine Verfärbung der Lösung ins Purpurfarbige stellte sich erst nach längerem Kochen mit der Säure oder nach dem Eindampfen der Flüssigkeit ein. Bei Ausführung der ADAMKIEWICZ'schen Reaction mit der von HAMMARSTEN vorgeschlagenen Modification erfolgte ohne Andeutung einer Violett- oder Purpurfärbung rasch Lösung der Masse zu einer schwach bräunlichgelb tingirten Flüssigkeit. Beim Erhitzen auf Platin über freier Flamme schmolz die Substanz, blähte sich ein wenig auf und hinterließ nach dem Verkohlen eine weiße Asche.

7 g Hornfäden mit 150 cem 4% iger Schwefelsäure gekocht, verloren ihre Durchsichtigkeit und lösten sich langsam zu einer bräunlichgelben, Anfangs trüben, später sich klärenden Flüssigkeit auf. Nach sechsstündigem Kochen wurde die Lösung mit Baryumcarbonat neutralisirt und das Filtrat auf dem Wasserbade eingeeengt; es enthielt von sicher nachweisbaren, krystallisablen organischen Stoffen Glykocoll, Leucin und daneben auch Tyrosin. Die vorhandenen Albumosen und Peptone lösten Kupferoxyd wie Kupferoxydul und verhinderten so die directe Ausführung der TROMMER'schen Zuckerprobe, doch war nach v. BABO's Verfahren reducirtes Kupferoxydul in den ersten, stark nach Leimpeptonen riechenden Dialysaten nachweisbar, welche nach Natronzusatz beim Kochen auch schwach reducirend auf Magisterium Bismuthi einwirkten. Ein hyalogener Bestandtheil, wie solcher z. B. in jedem Knorpel enthalten ist, scheint sich demnach auch in den Hornfäden zu finden.

Das fein pulverisirte und bei 130° C. bis zu eingetretener Gewichtsconstanz im Luftbade getrocknete, reine Präparat diente zu folgenden Analysen:

0,6846 g hinterließen 0,0012 Asche = 0,14%, welche bei den, zu den folgenden Bestimmungen verwendeten Substanzmengen in Abzug kamen.

0,4010 g lieferten 0,0130 g Baryumsulfat (0,0018 g S.) = 0,45% Schwefel.

0,8504 g gaben 1,5472 g Kohlensäure (0,4220 g C.) = 49,74% Kohlenstoff und 0,4694 g Wasser (0,05216 g H.) = 6,13% Wasserstoff.

0,5110 g gaben 0,9352 g Kohlensäure (0,25505 g C.) = 49,91 % Kohlenstoff und 0,2731 g Wasser (0,03055 g H.) = 5,98 % Wasserstoff.

0,4632 g lieferten 64,1 cem Stickstoff bei 15,4° C. und 750,5 mm Barometerstand = 0,073957 g oder 15,97 % Stickstoff.

	Elastin aus dem Nackenband vom Ochsen			Schalen- elastin des Ringel- nattereies (HILGER)	Elastoïdin aus den Hornfäden von <i>Mustelus</i> (KRUKENBERG)	
	(TILANUS)	(W. MÜLLER)	(HORBACZEWSKI)		I	II
C	54,90—55,65	55,09—55,72	54,13—54,57	54,68	49,74	49,91
H	7,25—7,41	7,11—7,67	6,89—7,09	7,24	6,13	5,98
N	17,52—17,74	15,71—16,52	16,59 u. 16,91	16,37	15,97	
S		0,05	0	0	0,45	

Vergleichen wir diese Procentzahlen mit denen, welche für die Elastine gefunden sind (s. obige Zusammenstellung), so ergibt sich selbst dann, wenn wir die in den Hornfäden vorhandenen 0,45 % Schwefel auf nebensächliche Beimengungen, auf genetische Übergangsproducte beziehen wollten, eine große Differenz (speciell im Kohlenstoffgehalte) zwischen der Substanz der Hornfäden und den Elastinen verschiedenartigster Vorkommnisse¹. Die elementare Zusammensetzung der Hornfäden beweist nicht weniger schlagend als ihr Verhalten zu Trypsin, dass dieselben nicht aus Elastin bestehen. Obschon es nun aber außer Zweifel steht, dass viele der sog. Hornfäden anderer Vorkommnisse, an welchen verschiedene Forscher (BRUCH, GEGENBAUR, V. LA VALETTE ST. GEORGE) eine ungleich leichtere Löslichkeit² für Essigsäure wie für verdünnte kalte Kalilauge constatirten, weniger resistent sich verhalten als die Hornfäden von *Mustelus*, und es mir auch kaum fraglich erscheint, dass die organische Grundsubstanz letzterer Gebilde sehr nahe steht,

¹ Vgl. des Näheren KRUKENBERG, Grundzüge einer vergl. Physiologie der thierischen Gerüstsubstanzen. Heidelberg, 1855. p. 226. — Das in dieser Schrift über die Verdauung der Hornfäden durch Trypsin Gesagte basirt lediglich auf Untersuchungen auf zuvor gekochten Fäden und ist deshalb dem Obigen entsprechend abzuändern.

² Für reine Altersdifferenzen können diese Abweichungen unmöglich gehalten werden.

vielleicht sogar identisch ist derjenigen Materie, welche von FRÉMY¹ in den Gräten von Fischen wie in Knochen von Wasservögeln nachgewiesen ist, welche er aber (obgleich sie ihm mit dem Ossein isomer zu sein schien) durch Kochen mit Wasser nicht in gelatinirende Lösungen überzuführen vermochte, so kann die Substanz doch eben so wenig den Collagenen zugezählt werden, deren Eigenthümlichkeit gerade in dem Gelatinirungsvermögen gesucht wird, welches den Hornfäden vollkommen abgeht. Erwägen wir jedoch, dass sich die Hornfäden in allen Eigenschaften, in welchen sie sich von den Collagenen entfernen, eng den Elastinen anschließen, so darf wohl mit Recht die Frage aufgeworfen werden, ob die Elastine eine absolute Trennung von den Collagenen überhaupt zulassen und nicht vielmehr nur als Derivate leimgebender Stoffe zu betrachten sind. Letzterer Auffassung reden unsere Erfahrungen an den Hornfäden jedenfalls sehr das Wort; ob indess die zur Bildung der Elastine führenden Processe nicht eben so eigenartige sind als die, welche die Epithelialgebilde und gewisse Secretmassen verhornen machen, ist vorläufig als eben so unentschieden zu betrachten wie die Frage, ob Collagene direct elastinisiren können oder ob den Repräsentanten beider Classen nur eine gemeinsame Muttersubstanz zukommt, die unter gewissen Verhältnissen in Collagen, unter anderen in Elastin übergeht. Nach allen diesen Erwägungen schien es mir rathsam, die in vielfacher Beziehung so eigenartige Substanz der Hornfäden Elastoidin zu nennen.

Die mit kalter, verdünnter Salzsäure ausgezogenen und darauf zwei Tage der Einwirkung sehr wirksamer Pepsinsalzsäure bei 38° C. ausgesetzten Eierschalen von *Scyllium stellare* wurden bei 128° C. bis

¹ E. FRÉMY (Ann. de chim. et de phys. 3. Sér. T. 43. 1855. p. 59 et 60) sagt von diesem Körper Folgendes:

»Ainsi j'ai trouvé, dans les os de certains palmipèdes et dans les arêtes de poissons, un corps azoté qui diffère évidemment de l'ossein, car il résiste à l'action de l'eau bouillante et à celles des acides.«

»Pour le préparer, je traite par l'acide chlorhydrique étendu et froid des os d'oiseaux aquatiques ou des arêtes de poissons; lorsque l'acide a opéré la dissolution des sels calcaires, la matière organique est lavée à l'eau froide, puis soumise à l'action de l'eau bouillante; l'ossein contenu dans ces os se transforme en gélatine, et il reste en suspension dans l'eau une substance transparente élastique qui a conservé la forme de l'os. Cette matière soumise à l'analyse m'a paru isomérique avec l'ossein.«

zu eingetretener Gewichtskonstanz getrocknet und erwiesen sich alsdann folgendermaßen zusammengesetzt:

0,5635 g hinterließen 0,0007 g Asche = 0,12 %; das Präparat ist in Hinblick auf den bedeutenden Schwefelgehalt bei den folgenden Bestimmungen als aschefrei betrachtet.

0,5749 g lieferten 0,0334 g schwefelsaures Baryum (0,004587 g Schwefel) = 0,50 % Schwefel.

0,7004 g lieferten 0,0425 g schwefelsaures Baryum (0,005835 g Schwefel) = 0,83 % Schwefel.

0,4540 g lieferten 0,0308 g schwefelsaures Baryum (0,00423 g Schwefel) = 0,93 % Schwefel.

0,9627 g lieferten 0,0670 g schwefelsaures Baryum (0,0092 g Schwefel) = 0,95 % Schwefel.

0,4135 g gaben 0,7803 g Kohlensäure (0,2128 g Kohlenstoff) = 51,46 % Kohlenstoff und 0,2428 g Wasser (0,02698 g Wasserstoff) = 6,52 % Wasserstoff.

0,4528 g gaben 0,8552 g Kohlensäure (0,23325 g Kohlenstoff) = 51,53 % Kohlenstoff und 0,2662 g Wasser (0,0295 g Wasserstoff) = 6,51 % Wasserstoff.

0,3301 g lieferten 43,8 ccm Stickstoff bei 746 mm Barometerstand und 14,3° C. = 0,050475 g oder 15,59 % Stickstoff.

0,4059 g lieferten 52,7 ccm Stickstoff bei 749,2 mm Barometerstand und 13,3° C. = 0,061276 g oder 15,10 % Stickstoff.

Trennt man, wie ich es für rathsam erachte, die Gerüstsubstanzen von Glykosidnatur, denen auch die Hyalogene und Hyaline zuzurechnen sind, als besondere Classe von den albuminoiden Stoffen ab, so fällt der Begriff des Mucins (in fester Form) mit den Hornsubstanzen oder Keratinen zusammen. Ohne Frage handelt es sich bei den Eihüllen der Selachier um einen Körper aus der letzteren Gruppe, um eine Keratinsubstanz oder, was dasselbe sagt, um ein fest gewordenes Mucin. Wie ich bereits früher (Vergl.-physiologische Studien. II. Reihe. I. Abth. Heidelberg 1882. p. 63) bemerkte, geben die Eierschalen der Selachier sowohl die MILLON'sche Reaction als auch entwickeln mit Kali geschmolzen Indol und, durch siedende verdünnte Schwefelsäure zersetzt, entsteht aus ihnen auch Leucin und Tyrosin in allerdings wechselnder Menge. Eben so geben sie (wie alle sonstigen Keratine) die Xanthoproteinreaction mit voller Deutlichkeit, färben bei anhaltendem Kochen mit concentrirter Salzsäure sich aber weder selbst noch die Säure roth, purpurn oder violett, und auch die Reaction von ADAMKIEWICZ fällt an ihnen negativ aus.

Bei Erledigung der Keratinfrage dürfte vielleicht der niedrige Schwefel- und Stickstoffgehalt der *Scyllium*-Eierschalen ein nicht geringeres Interesse besitzen als die Thatsache, dass die dem Uterus entnommenen jungen Eierschalen (wenigstens gilt das für *Scyllium* zwar von Pepsin, nicht aber von Trypsin verdaut werden, während mit zunehmendem Alter und speciell in dem Stadium, wo die Eier bereits abgelegt sind, die Schalensubstanz sich den proteolytischen Enzymen gegenüber als eben so widerstandsfähig erweist wie die übrigen Keratine¹. Diese Altersdifferenzen der Schalensubstanz glaubte ich früher als spezifische auffassen zu müssen; ich bin aber jetzt der Ansicht, dass zwischen den Eihüllen von *Scyllium* und *Myliobatis* keine durchgreifende chemische Differenzpunkte bestehen, und dass auch die wechselnden Mengen von Leucin und Tyrosin, welche die Schalen beider Selachierarten beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure lieferten, auf Altersunterschiede der Schalensubstanz zu beziehen sind. Wie ich schon oben erwähnte, dienten zu den angestellten Analysen solche Eierschalen von *Scyllium*, welche durch sonst kräftig wirkende Pepsinsalzsäure bei 38—40° C. in ersichtlicher Weise nicht mehr angegriffen werden.

6 Stunden mit destillirtem Wasser im zugeschmolzenen Glasrohre auf 165—170° C. erhitzt, lösten sich die in feine Streifen geschnittenen Schalen zu einer, durch kleinste weiße Partikelchen milchig getrübbten Flüssigkeit auf, welche stark nach Schwefelwasserstoff roch, ein goldgelbes, schwach alkalisches Filtrat lieferte und einen zwar stark klebenden, aber nicht gelatinirenden Verdauungsrückstand von bitterem Geschmack hinterließ. Das goldgelbe, durch ein längeres Kochen im offenen Gefäße von Schwefelwasserstoffgas befreite Filtrat wurde stark gefällt durch Phosphormolybdänsäure (nach vorausgegangenem Ansäuern mittels Salzsäure), durch Quecksilberchlorid, Gerbsäure, durch Metaphosphorsäure (beim Kochen bis auf Spuren schwindend) und durch Silbernitrat (beim Erwärmen erfolgte Reduction des Silbersalzes). Weniger beträchtlich waren die durch Alaun, durch Essigsäure, Salpetersäure und Salzsäure bewirkten Fällungen, welche durch einen Über-

¹ Ähnliches scheint schon v. MOROCHOWETZ beobachtet zu haben; wenigstens bemerkt KÜHNE (Unters. a. d. physiolog. Inst. der Univ. Heidelberg. Bd. I. Heft 2. 1877. p. 220): »Hinsichtlich der Resistenz des Keratins zeigen neuere Erfahrungen von Dr. MOROCHOWETZ, dass es jedoch verhornte Gewebe, namentlich der Oberhaut giebt, welche sehr kräftigen Pepsinsäuren erliegen, besonders nach vorausgegangenem Kochen mit Wasser.«

schluss des angewendeten Reagens sogleich wieder in Lösung gingen; auch neutrales wie basisches Bleiacetat erzeugten keine beträchtlicheren Niederschläge, und Ferrocyankalium (nach vorausgegangenem Ansäuern der Flüssigkeit mit Essigsäure), Ammoniak wie Natronlauge riefen nicht einmal Trübungen hervor. Die MILLON'sche, die Biuret- und die Xanthoproteinreaction traten in exquisitem Maße auf. Ein größerer Theil der Flüssigkeit wurde schließlich noch mittels des KÜHNÉ'schen Schlauchdialysors¹ der Dialyse unterworfen; im Schlauche schieden sich dabei reichliche Mengen von Albumosen aus, während das umgebende Wasser viel von diffundirten Peptonen enthielt. Nach Fällung der Albumosen und Peptone durch absoluten Alkohol gelang es regelmäßig Tyrosin wie Leucin unter den Zersetzungsproducten nachzuweisen.

Wiederholungen des Zersetzungs Vorganges durch überhitzten Wasserdampf ergaben nicht immer genau dieselben Resultate, auch dann nicht, wenn die Röhren mit den Schalenkeratinstreifen in gleicher Weise beschickt und die gleiche Zeit auf der nämlichen Temperatur erhalten wurden. Gewisse Säuren (z. B. Schwefelsäure) bewirkten in der einen Probe eine Fällung, in einer anderen wieder nicht, der Geruch nach Schwefelwasserstoff trat bald stärker, bald schwächer hervor, und in zwei Röhren zeigte die Auflösung des Keratins selbst eine stark saure Beschaffenheit, ohne dass die Acidität, welche sich an Lackmuspapier durch eine bleibende Röthung documentirte, lediglich durch absorbirtes Kohlensäure- oder Schwefelwasserstoffgas bedingt sein konnte. Diese Abweichungen sind bei dem gegenwärtigen Stande der Wissenschaft indess wohl sämmtlich ohne Belang.

Erhitzt man bei vorgelegtem Rückflusskühler das goldgelbe Filtrat der mit destillirtem Wasser auf 170° C. erwärmten Eierschalenstücke mit 2% iger Schwefelsäure zum Sieden, so färbt sich die Flüssigkeit bräunlichgelb; neutralisirt man nach 6 Stunden lang fortgesetztem Kochen die in der Farbe unverändert gebliebene Flüssigkeit durch Baryumcarbonat, engt die vom Baryumsulfat abfiltrirte Lösung auf dem Wasserbade bis auf ein kleines Volum ein, so erhält man mit Natronlauge und Kupfersulfat immer nur die Biuretreaction, niemals eine Reduction der Kupferverbindung bei Siedetemperatur; in reichlichem Maße bildet sich dabei Tyrosin neben verhältnismäßig wenig Leucin. In gleicher Art verhalten sich alle übrigen, von mir in dieser Beziehung geprüften Hornstoffe, wie Kuhhorn, Schildpatt, menschliche Haare und Fischbein.

¹ Vgl. KRUKENBERG, Grundriss etc. p. 38.